

THESIS

MUNICH

1966

Fibrinolysebestimmungsmethoden
und Fibrinolyseaktivierung
durch Heparin und Nikotinsäure

HERMANN ZANTL

LANE MEDICAL LIBRARY
STANFORD UNIVERSITY
300 PASTEUR DRIVE
PALO ALTO, CALIF.



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA40153723_0210

AUS DER MEDIZINISCHEN POLIKLINIK DER UNIVERSITÄT MÜNCHEN

Direktor: Professor Dr. W. SEITZ

FIBRINOLYSEBESTIMMUNGSMETHODEN

UND

FIBRINOLYSEAKTIVIERUNG DURCH HEPARIN UND NIKOTINSÄURE

Inaugural -Dissertation

zur Erlangung der Doktorwürde in der gesamten Medizin

verfaßt und

einer Hohen Medizinischen Fakultät

der Ludwig -Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von

Hermann Z a n t l

aus Nandlstadt

München 1966

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen
Fakultät der Universität München

Berichterstatter:	Prof. Dr. N. GOOSENS
Mitberichterstatter:	Prof. Dr. W. SEITZ
Dekan:	Prof. Dr. R. ZENKER

Tag der mündlichen Prüfung: 5.7.1966

Meiner Mutter,

Frau Dr. Irmgard Zantl, in Dankbarkeit
gewidmet

INHALTSVERZEICHNIS

	Seite
THEORETISCHER TEIL	7
Geschichtlicher Überblick	7
Problemstellung	10
EXPERIMENTELLER TEIL	12
Verwendetes Material	12
Methoden	13
1. Thrombelastographie	13
2. Spontanfibrinolyse	13
3. Papierfibrinolyse	14
4. Spontanpapierfibrinolyse	17
5. Papierfibrinolysebestimmung in vitro	18
Untersuchte Präparate	19
I. In-vitro-Versuche an Humanplasma	20
1. Wirkung von S.f. auf Plasma	20
2. Die Aktivierung beeinflussende Faktoren	22
II. In-vitro-Versuche an Kaninchenplasma	27
III. In-vivo-Versuche an Kaninchen	28
Bestimmung mittels TEG	28
Bestimmung mittels Papierfibrinolyse	28
Bestimmung mittels SPF	32
Bestimmung mittels Spontanfibrinolyse	35
IV. In-vivo-Versuche an gesunden Menschen	36
Bestimmung mittels TEG	36
Bestimmung mittels Papierfibrinolyse	37
Bestimmung mittels SPF	39
Nebenwirkungen von Solvosal forte	
und Nikotinsäure	41
Bestimmung mittels Spontanfibrinolyse	42

	Seite
DISKUSSION	44
1. Methoden	44
2. Untersuchte Präparate	45
ZUSAMMENFASSUNG	46
LITERATURVERZEICHNIS	49
LEBENS LAUF	53

THEORETISCHER TEIL

Die Antikoagulantientherapie ist seit beinahe 2 Jahrzehnten eine wirksame Waffe in der Hand des Arztes gegen thromboembolische Erkrankungen. Mit großem Erfolg findet sie Verwendung bei Phlebothrombosen und Thrombophlebitiden sowie bei venösen und arteriellen Embolien und Verschlüssen. Prophylaktisch wird sie bei Erkrankungen und Medikationen eingesetzt, welche die Thrombosebereitschaft erhöhen, und bei schweren Eingriffen bedient man sich ihrer, um der postoperativen Thromboembolie vorzubeugen.

Der Antikoagulantientherapie sind jedoch Schranken gesetzt durch die unzureichende Diagnostik einer Thrombosebereitschaft und durch die Schwierigkeiten bei der Durchführung einer solchen Therapie. Eine bereits bestehende thromboembolische Erkrankung wird lediglich am Fortschreiten gehindert, jedoch nicht ursächlich beseitigt. Man hat deshalb in den letzten Jahren versucht, bereits bestehende Thrombosen und Embolien durch die künstliche Aktivierung der Fibrinolyse bzw. Thrombolyse wieder aufzulösen.

Es wurden mehrere Aktivatoren der Fibrinolyse gefunden (Tränenflüssigkeit, Urokinase, Trypsin usw.). Der bisher therapeutisch wichtigste und am meisten verwendete Aktivator ist die Streptokinase. Nach zahlreichen Untersuchungen sollen auch Nikotinsäure und Heparin die Fibrinolyse aktivieren.

GESCHICHTLICHER ÜBERBLICK

1. Nikotinsäure

Über die Aktivierung der Fibrinolyse durch Nikotinsäure (N.S.) berichteten 1958 erstmals Weiner und Mitarbeiter (1). Sie sahen im Thrombelastogramm bei einer 67-jährigen Frau mit Hypertension 4 - 35 min. nach intravenöser Injektion von 1 mg N.S. pro kg Körpergewicht eine Zunahme der Fibrinolyse.

Imhof und Mitarbeiter (2) beobachteten nach intravenöser Gabe von N.S. eine Aktivierung der Lyse in etwa 2/3 der untersuchten Fälle. Diese Zahl verminderte sich bei kleinerer Dosis. Bei erhöhter Lyse sahen sie im Thrombelastogramm eine Abnahme der Maximalen Thrombuselastizität (Verminderung der Gerinnselbildung). Dies bestätigten Sailer (3), Beller und Sellin (4) sowie Egli und Klensch (5). Die Lyse wird nur in vivo aktiviert. Sie konnten die

Lyseaktivierung durch N.S. auch mit der Methode der passiven Hämagglutination nach Dausset (6) bestätigen.

J. Jürgens (7) glaubte, daß die Lyseaktivierung durch N.S. auch der vegetativen Regulation und dem Hypophysen-Nebennierenrinden-System unterliegt

Sailer (3) bestätigte, daß die Fibrinolyse durch N.S. nur in vivo erhöht wird, nicht aber in vitro. Nach seinen Untersuchungen bewirkt N.S. keine Fibrinogenolyse. Profibrinolysin war auf dem Maximum der Lyse minimal vermindert.

F. Koller (8) stellte fest, daß die fibrinolytische Wirkung der N.S. nur kurze Zeit (etwa 30 min.) anhalte und nach mehrmaliger Gabe geringer wurde. Dies bestätigten Deutsch und Fischer (9) sowie Jeller und Nagel (10).

Die Zunahme der fibrinolytischen Aktivität nach N.S.-Injektion ist nach Egli und Klensch (5) von einer Erhöhung des Minuten-Schlagvolumens begleitet. Sie konnten in weiten Bereichen sogar eine proportionale Beziehung beider Effekte beobachten. Ebenso deuteten sie die von Thiessen und Fischer (11) beschriebene Steigerung des Minuten-Schlagvolumens nach intravenöser Gabe von 3-(Methyloxyäthylamino)-2-Oxypropyltheophyllin- β -Pyridincarbonsäure (=Complamin) als eine Wirkung der N.S. Die Lyseerhöhung ist deutlich nur bis 30 min. post injectionem.

J. Jurgens (7) berichtet, daß eine Dosis von 1 mg N.S. kg Körpergewicht und mehr bis 500 mg nötig ist, um die Lyse zu erhöhen. 100 mg werden gut vertragen und überbeanspruchen den Kreislauf nicht. Nach der Injektion von N.S. beginnt die Lysewirkung nach etwa 3 min., erreicht ihr Maximum nach etwa 12-15 min. und endet nach etwa 20-30 min.

Die Schnelligkeit der Injektion von N.S., erklärten Deutsch und Fischer (12), bestimmt den Grad der Nebenwirkungen. Wird langsam injiziert, so bleibt die Lyse aus.

Zum Wirkungsmechanismus der Lyseaktivierung durch N.S. diskutiert Heimburger (13), daß die N.S. wahrscheinlich einen gefäßständigen Aktivator der Esterase Plasmodfibrinolysokinase (bzw. Plasmaaktivator) freisetzt. Gross (14) glaubt an ein Freiwerden von Serum- und Leukozytenlysokinasen durch N.S.

2. Heparin

Auch dem Heparin wird die Fähigkeit nachgesagt, die Fibrinolyse in geringem Maße zu aktivieren. Schon 1948 beobachteten Rabinovitch und Pines (15), daß sich ein experimentell gesetzter Gefäßstromeis nach Heparinungen beschleunigt auflöst. Dies bestätigten Loewe und Mitarbeiter (16).

Baeckeland (17) berichtete 1950, daß die Mastzellen unter Verlust ihrer Granula Heparin freisetzen und so subkutan implantiert Fibrinkoagula auflösen.

Menrere Autoren konnten feststellen, daß die Fibrinolyse in vitro durch Heparin aktiviert wird. (Friedrich (18), Matis und Mitarbeiter (19), Vinazzer (20), Schmidhauser-Kopp und Eichenberger (21), von Kaulla (22), Marx (23), von Kaulla und McDonald (24), Buluk und Januszko (25), Giacomazzi (26) und Halse (27).

Ebenso vermochten einige Forscher eine Aktivierung der Lyse durch Heparin in vivo nachzuweisen. (von Kaulla (22), Clifton und Mitarbeiter (28), Sandritter und Mitarbeiter (29 und 30), Beller und Sellin (4), Lackner und Mersky (31), Sailer und Eber (32), Greig (33), Halse (27), de Nicola (34) und Kraft (35).)

Nach anderen Veröffentlichungen soll die Lyse durch Heparin eine Hemmung erfahren. In vitro stellten dies Astrup und Mitarbeiter (36) fest, sowie Jaques (37) und Kline (38), in vivo Storm (39) und Berkarda (40).

Nach Hume (41), Horder und Mitarbeitern (42) sowie Kowalski und Niewiarowski (43) ubt Heparin auf die Fibrinolyse keinen signifikanten Einfluß aus.

Halse (44) schrieb, Heparin wirke lytisch durch Aktivierung des Profibrinolysins.

Nach den Untersuchungen von von Kaulla und Mitarbeitern (45,46) steigert Heparin in kleineren Dosen die Fibrinolyse von mit Urokinase aktiviertem Plasma und herab in größeren. Ähnliche Ergebnisse erzielte Kontinen (47) bei Streptokinase aktiviertem Plasma. Dies bestätigte Marx (48) im wesentlichen.

Clifton (49) zeigte, daß große Mengen Heparin das Plasmin hemmen, während kleinere es aktivieren.

Nilsson und Mitarbeiter (50) fanden kurzlich, daß Heparin auf verschiedene fibrinolytische Aktivatoren hemmend wirkt. Dieser Effekt verlangt große Mengen Heparin (10-1000 i.E./ml). Niemals trat eine fördernde Wirkung auf. Unter anderem wiesen sie nach, daß Plasma, welches 10 min. nach N.S.-Gabe abgenommen wurde, durch Heparinzusatz auch geringe Mengen seine gesteigerte Lyse einbüßt.

Deutsch und andere (51) glauben, daß die Wirkung des Heparins und anderer Antikoagulantien darauf beruhe, daß ein Gerinnsel unter Heparin lockerer wird und so der Fibrinolyse leichter anheimfällt, ohne jedoch die Lyse zu aktivieren.

3. Heparin und Nikotinsäure

Um die schnellere Gerinnungsbildung nach intravenöser Injektion von N. S. zu vermeiden, wurde für die therapeutische Anwendung empfohlen, die N. S. mit Heparin zu kombinieren. Sailer und Eber (32) kamen bei Kaninchenversuchen zu dem Schluß, daß bei gemeinsamer Verabreichung von Heparin (40 I.E. /kg) und N. S. (2 mg/kg) bei 68% eine deutliche Verkleinerung vorher künstlich gesetzter Thromben zu beobachten ist.

Beller und Sellin (53, 4) konnten experimentell nachweisen, daß 1000 I.E. Heparin + 50 mg N. S. die Gerinnungszeit über eine Stunde verlängern, ohne die Lyse aufzuheben.

In Rahmen einer Untersuchung der klinischen Brauchbarkeit verschiedener Fibrinolytika kam Thies (53) zu dem Ergebnis, daß Solvosal forte[®] (Heparin + N. S.) schwache Lysen erzeuge, die überdies kurzdauernd sind und nicht regelmäßig eintreten. Antithrombinzeit, Thromboplastinzeit und Rekalzifizierungszeit sind verlängert.

PROBLEMSTELLUNG

Aus den bisherigen Untersuchungsergebnissen geht folgendes hervor:

N. S. aktiviert in vivo die Lyse, nicht jedoch in vitro.

Dosis: 1 mg N. S. /kg und mehr bis 500 mg. Verstärkte Lyse setzt etwa 3 min. nach der Injektion ein, erreicht das Maximum nach etwa 12 - 15 min. und endet nach etwa 20 - 30 min.

Minuten- und Schlagvolumen nehmen zu. Im TEG sind Abnahme der maximalen Thrombuselastizität und Verkürzung der Reaktionszeit zu beobachten.

Heparin aktiviert nach den Beobachtungen mehrerer Autoren die Lyse in vivo und in vitro. Nach anderen Untersuchungen erfährt die Lyse durch Heparin in vivo und in vitro eine Hemmung. Einige Autoren sahen nach kleineren Dosen von Heparin eine Steigerung und nach größeren Dosen eine Hemmung der Lyse.

Nach Nilsson und Mitarbeitern (50) wirkt Heparin in höheren Dosen in vitro hemmend auf verschiedene fibrinolytische Aktivatoren und auf Plasma mit gesteigerter Lyse.

1000 I.E. Heparin + 50 mg N. S. (i.v. inj. pro Versuchsperson (VP)) verlängern die Gerinnungszeit und aktivieren die Lyse, aber sie ist schwach, kurzdauernd und tritt nicht regelmäßig ein. Bei Kaninchen wurde ein thrombolytischer Effekt beobachtet.

Da die Angaben über die fibrinolytische Wirkung der N. S. und des Heparins in der Literatur zum Teil widersprechend sind, beabsichtigten wir, mit verschiedenen Lysebestimmungsmethoden Versuche anzustellen.

Besonders geeignet schien dazu die Papierfibrinolyse zu sein (Walcher und Goossens (54), Goossens (55), Goossens (56), Müller (57)), wie sie Scholle (58) beschrieben hat.

Weiterhin dienten uns folgende Methoden:

Die Thrombelastographie nach Hartert (59, 60), die Spontanfibrinolyse, welche von Müller (57) nach der Methode von Macfarlane (61) modifiziert wurde, und die Spontanpapierfibrinolyse, welche wir selbst während unserer experimentellen Arbeiten entwickelt haben.

Papierfibrinolyse und Spontanpapierfibrinolyse wurden als Methoden geprüft.

Zudem modifizierten wir die Papierfibrinolyse so, daß wir mit ihr die Lyseaktivität in vitro bestimmen konnten.

Mit diesen Methoden untersuchten wir die fibrinolytische Wirkung von N. S. und Heparin sowie deren Kombinationen an Kaninchen und Menschen, in vitro und in vivo.

EXPERIMENTELLER TEIL

Lösungen und Substanzen

1. Natriumzitrat 3,9%ig, neutral
2. Isotonische, sterile NaCl-Lösung 0,9%ig, pH 5,5-6
3. Veronalpuffer pH 7,3 (0,05 m)
4. Aqua bidest
5. Streptokinase: Streptase (Behring) 5000 E pro Ampulle
6. Rinderfibrinogen (Behring): Ampullen zu 60 mg
7. Test. Thrombin (Behring): 60 NIH Einheiten pro Ampulle
8. Anidoschwarz 10 B (Bayer)
9. Elphorentfärber: 100 ml Eisessig + 900 ml Methanol
10. Elphor-Transparenzflüssigkeit
11. Isotonische Calciumchlorid-Lösung 1,29%ig
12. Paraffinöl (DAB 6)
13. Alkohol
14. Xylol

Materialien

1. Chromatography Paper: Whatman No I, 28,5 x 3,9 cm
2. Watte
3. Zellstoff

Geräte

1. Thrombobelastograph (Hellige) mit Zubehör
2. Auswertegerät "Elphor Integraph" und Vakuumpumpe (Bender & Hobein)
3. Bechergläser 250 ml-weit
4. Reagensgläser (Zentrifugengläser) Durchmesser: 1,5 cm
5. Objektträgerpinzetten
6. Hartgummirolle (Linolaufdruckwalze) 150 g
Exsiccator mit CaCl_2
8. Injektionsspritzen und Kanülen

METHODEN

1. Thrombelastographie

Prinzip

Eine Kuvette mit Zitratplasma und Calciumchlorid im Überschuß führt eine Drehpendelbewegung aus. In die Kuvette ragt ein zylindrischer Stift, welcher von allen Kuvettenwänden gleichen Abstand hat. Aufgehängt ist der Stift an einem Torsionsdraht. Solange das Plasma flußig ist, bleibt der Stift in Ruhe. Tritt Gerinnung ein, d. h. spannen sich zwischen Kuvettenwand und Stift Fibrinfäden, wird der Stift je nach Festigkeit des Gerinnsels entsprechend weit mitgedreht. Beim Auflösen der Fibrinfäden wird die Drehbewegung des Stiftes immer kleiner und kommt schließlich wieder zum Stillstand.

Am Stift ist ein Spiegel befestigt, auf den ein Lichtstrahl trifft. Dieser wird reflektiert und pendelt durch die Drehbewegung des Stiftes hin und her. Der Ausschlag dieses Lichtstrahles wird photokymographisch festgehalten und liefert das Thrombelastogramm.

Ausführung

Die Kuvetten werden in das Gerät eingesetzt und mindestens 5 min. vorgewärmt. Wir beschickten sie zuerst mit 0,3 ccm Zitratplasma und nach 3 min. mit 0,05 ccm 1,29 %iger CaCl_2 -Lösung. Danach wurde sofort luftdicht mit Paraffinöl überschichtet und das Gerät in Gang gesetzt.

Auswertung

Aus dem Thrombelastogramm kann der Gerinnungsablauf und die Fibrinolyse in allen Phasen abgelesen werden.

2. Spontanfibrinolyse

Prinzip

Verdünntes Zitratplasma wird mit Thrombinlösung versetzt. Dadurch entsteht ein Gerinnsel. Durch Fibrinolyse kann das Gerinnsel spontan gelöst werden.

Ausführung

Zitratplasma wird mit Veronalpuffer im Verhältnis 1 : 64 verdünnt. 1,0 ml dieser Verdünnung versetzten wir in einem Reagensglas mit 0,1 ml Thrombinlösung (20 NIH E/ml aqua bidest.) und schüttelten sofort. Die Ansätze wurden verkörkt

und 22 Std. im Brutschrank bei 37°C aufbewahrt,

Auswertung

Vollig gelöste Gerinnsel wurden von teillösl. (Bodensatz) und nicht gelösten Gerinnseln unterschieden.

3. (Aktivierte) Papierfibrinolyse

Prinzip

Fibrinpapierstreifen werden zuerst mit Fibrinogenlösung und anschließend mit Thrombinlösung getränkt. Dadurch erzeugt man eine dünne, gleichmäßige Fibrinschicht auf dem Streifen. Aus dem mittleren Teil eines solchen Fibrinpapierstreifens werden 5 cm breite Fibrinpapierfolien geschnitten, welche für die Untersuchung verwendet werden.

Verdünntes Citratplasma mit Streptokinase aktiviert wirkt auf die Fibrinpapierfolie ein. Dadurch wird aus der Folie entsprechend der Lyseaktivität Fibrin gelöst. Von den mit einem Eiweißfarbstoff (Amidoschwarz) gefärbten und transparenten Folien werden die Lichtextinktionswerte photoelektrisch gemessen, und davon die prozentuale Lyse errechnet.

Ausführung

a. Herstellung der Fibrinpapierfolie

Ausetzen der Fibrinogenlösung

Die Fibrinogenlösung ist 1:1000

1,3 - 1,4 mg Fibrinogen werden in 100 ml NaCl-Lösung aufgelöst. Die Lösung wird mit einem Papierfilter gefiltert.

Tränken der Papierstreifen

Fibrinpapierstreifen 15 x 10 cm werden mittels Objektingerpinzetten zweimal in die Lösung getaucht. Durch kapillare Kräfte verursacht ungleichmäßige Fibrinbildung. Durch die Lösung gelöst. Unsparsam arbeiten zu können, sollte die Tiefe der Glaschalen etwa 1 x 10 cm sein.

Plasma wird der Fibrinogenlösung auf einer Glasscheibe (etwa 30° Neigung) dünnflüssig mit einem Hartgummistift langsam und ohne Druck aufgetragen. (Gesetz: 50% der Oberfläche des Streifens)

Scheibe und Rolle werden nach jedem Ausrollen trockengewischt

Anschließend werden die Streifen zum Trocknen horizontal über einen leeren

Wassersbad mit Wasser gespannt (bei 20 °C bei 20 cm)

Nach etwa 2-stündiger Trocknung an Luft bei Raumtemperatur erfolgt die

Tränkung mit Thrombinlösung.

Die Thrombinlösung enthält 10 NIH E/ml.

Z. B.: 10 Ampullen Test-Thrombin (50 E/Ampulle) werden in 50 ml Aqua
bidest. gelöst.

Das Benetzen der fibrinogengetränkten Streifen ist etwas erschwert. Es wird wie
bei der Fibrinogen-tränkung verfahren.

Die Streifen werden zweimal über das Wassersbad gespannt und bei Zimmer-
temperatur getrocknet.

Die getrockneten Fibrinpapierstreifen werden dann im Exsiccator bei Raumtempe-
ratur aufbewahrt und sollten dort bis zur Verwendung im Testansatz mindestens
24 Std. liegen.

Haltbarkeit der Fibrinpapierstreifen: mindestens 1 Monat.

Aus dem mittleren Teil dieser Fibrinpapierstreifen (2,9 x 29,5 cm) werden etwa
sechs 3 cm breite Stücke geschnitten. Diese Stücke (2,9 x 3 cm) sind die Fibrin-
papierfolien.

b. Testansatz

Es werden Doppelansätze durchgeführt.

In ein Becherglas (250 ml-weit) werden 10 ml Veronalpuffer pipettiert. Dazu
gibt man 1,5 ml Plasma und anschließend 1,5 ml Streptase-Lösung (50 E Streptase/ml)
zur Aktivierung der Fibrinolyse.

In diesen Testansatz legt man nach etwa 5 min. eine Fibrinpapierfolie (Inku-
bationszeit: 15 min.) (Wenden der Folie, Entfernen der Luftblasen)

Von den 0 oder 7 Fibrinpapierfolien, die aus einem Fibrinpapierstreifen ge-
schnitten werden, wird eine Folie ohne Streptokinaseaktivierung 15 min. inkubi-
ert. (Vollfolie; siehe Auswertung).

Testansatz: 15 ml Puffer + 1,5 ml Plasma + 1,5 ml Streptase

Vergleichsansatz: 15 ml Puffer + 1,5 ml Plasma

c. Wässerung

Nach der Inkubation werden die Fibrinpapierfolien 15 min. in einem Wasserbad
mit leicht bewegtem, durchfließendem Leitungswasser gespült.

Danach kommen die Fibrinpapierfolien nach Doppelansätzen getrennt für

20-22 Std. in isotonische NaCl-Lösung in mit Paraffin verschlossenen Bechergläsern.

Nach etwa 20-stündiger Trocknung bei Zimmertemperatur zwischen Zellstofflagen erfolgt die

d. Färbung .

Die trockenen Fibrinpapierfolien werden in einem kleinen Wasserbad 10 min. mit Amidoschwarz (Färbung entsprechend der Eiweißkonzentration) gefärbt. Die Farblösung wird dann abgegossen und die Folie mit Elphorentfärber in 9 Stufen abnehmender Konzentration für jeweils 10 min. pro Stufe ausdifferenziert. Die letzte Stufe muß farblos bleiben. Danach werden die Folien wieder zwischen Zellstofflagen getrocknet.

Auswertung

Die getrockneten, gefärbten Papierfolien werden im Vacuum (Wasserstrahlpumpe) mit Elphortransparenzflüssigkeit getränkt. Die dann transparenten Folien legt man zwischen zwei dünne Glasplatten und schickt sie durch das Elektrophoreseauswertegerät. Die Extinktionswerte können an einem Zählwerk abgelesen werden. Nur die inneren 2 cm einer 3 cm breiten Folie ergeben den Extinktionswert.

Berechnung der Lysequote in %

Die Größe des Extinktionswertes ist direkt proportional dem Grad der Farbintensität und mithin der Menge des Fibrins auf der Folie.

Neben dem Extinktionswert der Testfolie werden auch jene der Leerfolie und der Vollfolie bestimmt.

Die Leerfolie ist das gefärbte 3 cm breite Stück eines Elphorpapierstreifens ohne Fibrin. Er dient zum Eichen des Gerätes und liefert den Extinktionswert entsprechend einer Folie mit 100% Lyse (ohne Fibrin). Die Leerfolie wird unter Lichtabschluß in Transparenzflüssigkeit aufbewahrt.

Die Vollfolie (Siehe auch unter "Testansatz"!) ist eine gefärbte Fibrinpapierfolie (mit Fibrin), die in einem nicht aktivierten Ansatz 15 min. inkubiert, gewässert und ebenso behandelt wird wie die Testfolie, und liefert den Extinktionswert entsprechend einer Folie mit 0% Lyse (aus der Folie ist kein Fibrin gelöst). Die Vollfolie muß für jeden Fibrinpapierstreifen bestimmt werden (Siehe unten!)

Die prozentuale Lyse der Testfolie wird gegen den Leerwert (100% Lyse) und Vollwert (0% Lyse) nach folgender Formel errechnet:

$$\text{Lyse in \%} = 100 - \frac{(\text{Testwert} - \text{Leerwert}) \times 100}{(\text{Vollwert} - \text{Leerwert})}$$

Nach Scholle (58) beladen sich die Folien im Ansatz mit Plasmaproteinen und färben sich dadurch mit Amidoschwarz etwas stärker an als nicht mit Plasma inkubierte Folien. Deshalb werden die Vollfolien wie die Testfolien 15 min. in einen Ansatz mit Plasma (1,5 ml - Menge wie im Testansatz) inkubiert jedoch ohne Streptokinaseaktivierung, gewässert und ebenso behandelt wie die Testfolien.

Die Leerfolie (ohne Fibrin) braucht nicht in Plasma inkubiert zu werden. Die adsorbierten Plasmaproteine werden bei der Wässerung vollständig ausgewaschen.

Der Vollwert muß für jeden Fibrinpapierstreifen (aus dem die 6 Folien geschnitten werden) mitbestimmt werden, da zwar die Streifen gleichmäßig mit Fibrin (also die Folien eines Streifens untereinander mit gleicher Fibrinmenge) beladen sind, die einzelnen Fibrinpapierstreifen hingegen unterschiedlich Fibrin adsorbieren können. (Scholle (58)).

Fehlerbreite der Methode

Scholle errechnete von 382 Doppelbestimmungen jeweils die Differenz der beiden Ergebnisse und ermittelte von diesen das Mittel. Es betrug $\pm 3,6\%$.

Bei der Verwendung verschiedener Streifen erhöhte sich dieser Mittelwert auf $\pm 5\%$.

4. (nicht aktivierte) Spontanpapierfibrinolyse (SPF)

Prinzip

Fibrinpapierfolien (Siehe Papierfibrinolyse) werden in verdünntes Zitratplasma gegeben und 22 Std. inkubiert. Die gelöste Fibrinmenge wird wie bei der Papierfibrinolyse ermittelt.

Ausführung

In ein Reagensglas (Durchmesser: 1,5 cm - garantiert völliges Eintauchen der Folie) pipettiert man 0,5 ml Veronalpuffer pH 7,3 und 0,5 ml Zitratplasma (1:5) und gibt eingerollt eine Testfolie dazu. Diese liegt der Wand an. Die luftdicht verkorkten Testansätze stellten wir 22 Std. bei 37°C in den Brutschrank.

Anschließend werden die Folien behandelt wie bei der Papierfibrinolyse. (Siehe Papierfibrinolyse, Wässerung und Färbung). Nach 15-minütiger vorsichtiger Wässerung in fließendem, jedoch nicht zu stark bewegtem Leitungswasser (die Folien zerreißen sonst leicht) werden sie 22 Std. in Physiologische NaCl-Lösung gelegt, gefärbt und elektrophoretisch ausgewertet.

Auswertung

Die Auswertung bei der SPF wird nach den Prinzipien der Papierfibrinolyse durchgeführt.

Der Leerwert (100% Lyse) ist eine fibrinfreie, gefärbte Folie.

Als Vollwert (0% Lyse) diene uns der Lysewert des Blutes, welches wir vor der Injektion des zu untersuchenden Mittels abgenommen haben.

Sicher wirkt auch dieses Blut in geringem Maße lytisch. Es werden daher aus der Folie in den 22 Std. der Inkubation geringe Mengen Fibrin gelöst. Wir nannten den Vollwert in diesem Falle den "relativen Vollwert".

Die prozentuale Lyse der Testplasmen nach der Injektion werden mit diesen Werten nach obiger Formel berechnet. Vollwertfolie und Testwertfolie werden selbstverständlich aus demselben Fibrinpapierstreifen entnommen.

Fehlerbreite der Methode

Den Fehler der Methode errechneten wir wie unter Papierfibrinolyse erläutert wurde aus der Differenz von Doppelbestimmungen. Der Mittelwert von 54 Differenzen war 6%.

5. Papierfibrinolysebestimmung in vitro

Prinzip

Zu verdünntem Zitratplasma wird in vitro das zu untersuchende Präparat (z.B. Heparin, N.S.) und eine Fibrinpapierfolie (Siehe Papierfibrinolyse) gegeben. Bei Lyseaktivierung wird aus der Folie mehr Fibrin gelöst als aus einer Folie, die in demselben Plasma ohne Präparat inkubiert wird.

Ausführung

In ein Becherglas (250 ml - weit) werden 15 ml Veronalpuffer pH 7,3 und 1,5 ml Plasma pipettiert. Dazu gibt man 1,5 ml des zu untersuchenden Präparates und danach die Folie. Inkubationszeit: 30 min.

Zu jedem Testansatz wird ein Vergleichsansatz ohne das Präparat inkubiert. Zu 15 ml Puffer und 1,5 ml Plasma gibt man eine Folie aus demselben Fibrinpapierstreifen.

Auswertung

Die prozentuale Lyse wurde aus den Extinktionswerten nach den Prinzipien der Papierfibrinolyse errechnet. Der Leerwert war eine gefärbte Folie ohne Fibrin.

Den Vollwert lieferte die Vergleichsfolie ohne Aktivierung. Die prozentuale Lysequote ist ein Maß für die Lysezunahme durch Zugabe des zu untersuchenden Präparates.

Fehlerbereich der Methode

Auch hier errechneten wir den Fehler der Methode aus den Differenzen von Doppelbestimmungen. (Siehe Papierfibrinolyse) Der Mittelwert aus den Differenzen von 148 Doppelbestimmungen war $\pm 2,5\%$.

UNTERSUCHTE PRÄPARATE

1. Solvosal forte[®] (S. f.)¹

S. f. enthält in einer Ampulle zu 5 ccm:

1000 I.E. Heparin

50 mg N. S.

25 mg Rutin

S. f. ist für intravenöse und intramuskuläre Injektion geeignet. Folgende Indikationen werden unter anderen angegeben.

Thrombophlebitis, Thrombose, Embolie, prae- und postoperative Thromboseprophylaxe und Thrombosenachbehandlung.

Um eine ausgeprägte fibrinolytische und thrombolytische Wirkung zu erzielen, ist die intravenöse Injektion von 2 - 3 Ampullen erforderlich, entsprechend einer Dosierung der Nikotinsäurekomponente von 1-3 mg/kg Körpergewicht. Die Injektion soll in circa 4 min. beendet sein.

2. Solvosal[®]²

Eine Ampulle Solvosal zu 2 ccm enthält:

20 mg N. S.

0,015 mg Strychnin nitr.

10 mg Rutin

1,2 mg Hamamelis

4 mg Aeskulin

1,2 mg Carduus marianus

Solvosal wird als Ergänzungstherapie zu S. f. empfohlen.

¹ Hersteller: Chemische Fabrik Helfenberg A.G., Wevelinghofen/Rhld

² Hersteller: Chemische Fabrik Helfenberg A.G., Wevelinghofen/Rhld

3. Folgende Kombinationen ließen wir uns von der Firma herstellen:

1/Amp. 7: Heparin 1000 I.E./5 ccm

1/Amp. 8: Heparin 1000 I.E. + N.S. 50 mg/5 ccm

1/Amp. 9: Heparin 1000 I.E. + Rutin 25 mg/5 ccm

1/Amp.11: N.S. 50 mg + Rutin 25 mg/5 ccm

Mengen und Konzentrationen entsprechen also denen von S.f.

4. Zudem fertigten wir uns zu vergleichenden Kontrollen der von der Firma zur Verfügung gestellten Bestandteile (Vergleiche Ziffer 3) selbst Präparate an in entsprechenden Konzentrationen und verwendeten hierzu Thrombo-Vetren, Liquemin und Niconacid. Wir verdünnten mit Physiologischer Kochsalzlösung.

I. In-vitro-Versuche an Humanplasma

1. Wirkung von S.f. auf Plasma

Aktivierung von S.f.

Im Laufe unserer Arbeiten versuchten wir die fibrinolytische Wirkung von S.f. auf das menschliche Plasma (Zitratplasma 1:5) mit einer Modifikation der Papierfibrinolyse in vitro zu testen. Wir benutzten als Testplasma Mischplasma von 12 Patientenplasmen, Davon gaben wir 1,5 ml Veronalpuffer pH 7,3. Dazu pipettierten wir 5 ml S.f. als aktivierende Substanz und inkubierten eine Testfolie 30 min. Diese Folien zeigten gegenüber dem Vollwert ohne S.f. (= 0% Lyse) eine Lyse von 21% an.

Als wir Mischplasma mit 3 ml, 2 ml und 1 ml S.f. aktivierten, stellten wir stets eine etwa gleiche Lysezunahme um durchschnittlich 20% fest.

Kontrollen

Durch weitere Versuche konnten wir obige informative Versuchsergebnisse bestätigen. Ansätze 15 ml Puffer + 1,5 ml Plasma + 1,5 ml S.f. Inkubationszeit: 30 min. Wir führten diese Kontrollversuche an 2 verschiedenen Mischplasmen A und B durch, sowie an den Einzelplasmen P1, P2, P3 und P4. (Tab. 1)

Tab. 1

Plasmen	0-Werte in %	Einzelwerte in %	Mittelwerte in %
A	0	20,20,21,19,21	20
B	0	18,20,19,22,24	20
P1	0	18,20	19
P2	0	17,20	19
P3	0	18,21	20
P4	0	12,14	13

Vergleichende Versuche ohne Plasmazusatz

Um auszuschließen, daß S. f. auch ohne Plasma Fibrin aus unseren Testfolien löst, führten wir Versuche durch ohne Plasmazusatz.

Tab. 2

Ansätze	Mittelwerte aus 7 Einzelwerten in %
1. 15 ml Pf + 1,5 ml Pl ¹	0
2. 15 ml Pf + 5 ml S. f.	27
3. 15 ml Pf	22

Aus Tab. 2 Ziffer 2 und 3 darf geschlossen werden, daß Puffer und S. f. gegenüber Puffer allein keine verstärkte Fibrinolyse hervorruft. (Vergleiche auch S. 24)

Die Lysezunahme um 5% von 22% auf 27% liegt im Bereich der Fehlergrenze der Methode. Die Ursache könnten die durch S. f. -Zusatz veränderten Ionenverhältnisse sein.

Eigentlich wäre, da theoretisch eine Aktivierung der Lyse in Ziffer 2 und 3 ohne Plasma gegenüber Ziffer 1 nicht statthaben kann, eine Lysegleichheit aller 3 Ansätze zu erwarten. Die Lysezunahme in Ziffer 2 und 3 ist jedoch nur eine scheinbare und wird dadurch bewirkt, daß die Folien der Ansätze 2 und 3 (ohne Plasmaproteine) nicht so stark mit Amidoschwarz gefärbt waren wie die Folien in Ansatz 1 (mit Plasmaproteinen), weil sie nicht zusätzlich wie Ansatz 1 mit Plasmaproteinen beladen waren. (Dissertation Scholle (58)).

¹ Pf = Puffer, Pl = Plasma

Wirkung der Bestandteile von S.f.

Wir prüften, ob das Heparin oder die N.S. in S.f. die Lyse in vitro aktiviert. Dazu versetzten wir 15 ml Puffer und 1,5 ml Plasma (konstantes Mischplasma für alle Ansätze) mit 1,5 ml der in Tab. 3 angeführten Kombinationen von S.f.. Inkubationszeit: 30 min.

Tab. 3

Dabei ergab die Aktivierung mit

- | | | |
|------------------------------------|-------------|-------|
| 1. Heparin + Rutin: 1/9 | | |
| 16, 14, 16, 11, 16, 17, 11, 11 (%) | Mittelwert: | 14 % |
| 2. Nikotinsäure + Rutin: 1/11 | | |
| 2, 1, 6, 1, 8, 6, 2, 0 (%) | Mittelwert: | 3,7 % |
| 3. Solvosal forte: | | |
| 13, 17, 18, 15 (%) | Mittelwert: | 16 % |

Nach diesen Untersuchungen aktivieren N.S. und Rutin die Fibrinolyse in vitro nicht. Die Lysequote des Mittelwertes von 3,7% liegt im Fehlerbereich der Methode. Die S.f.-Wirkung in vitro beruht allein auf Heparin. In S.f. wird die Lyse von Heparin in vitro durch N.S. und Rutin weder gehemmt noch gefördert.

Ergebnis

In vitro wird die Fibrinolyse von Humanplasma durch Zusatz von S.f. aktiviert. Diese Lysezunahme tritt in 100% der Plasmen ein und ist voll reproduzierbar. Der Effekt beruht allein auf Heparin. N.S. und Rutin beeinflussen weder die Lyse noch die Wirkung des Heparins.

2. Die Aktivierung beeinflussende Faktoren

Wirkung von unterschiedlichen Mengen S.f.

- a. bei unterschiedlicher Puffermenge, aber gleicher Gesamtmenge des Puffer-Plasmagemisches;

Ansätze: Unterschiedliche Mengen Puffer + 1,5 ml Plasma + unterschiedliche Mengen S.f.

Tab. 4

	ml Pf	ml S. f.	Einzelwerte in %			Mittelwerte in %
1.	16,5	0	0,	0,	0	0
2.	11,5	5	13,	12,	12	12
3.	13,5	3	13,	15,	17	15
4.	15,0	1,5	12,	12,	13	12
5.	15,5	1	12,	15,	12	13
6.	16,0	0,5	12,	17,	11	13
7.	16,25	0,25	15,	12,	12	13
8.	16,4	0,1	13,	15,	10	13

b. bei gleicher Puffermenge, aber unterschiedlicher Gesamtmenge des Puffer-Plasmagemisches:

Ansätze: 15 ml Puffer + 1,5 ml Plasma + unterschiedliche Mengen S. f.

Tab. 5

	ml S. f.	Einzelwerte in %		Mittelwerte in %
1.	0	0,	0	0
2.	1,5	11,	14	13
3.	0,5	12,	15	14
4.	weniger als			
	0,01	0,	0	0

Zwischen den Ergebnissen von Tab. 4 und 5 besteht kein Unterschied in der Lyseaktivierung. Der geringe Konzentrationsunterschied des Plasmas in Vergleichsansätzen und Testansätzen darf vernachlässigt werden; denn er beeinträchtigt das Versuchsergebnis nicht.

Verschiedene Mengen S. f. rufen in den höheren Konzentrationen (S. f.-Menge größer als 0,1 ml) keine verschiedene Lyseaktivierung hervor. Wahrscheinlich aktiviert ein Überschuß an S. f. alles vorhandene für S. f.-Aktivierung zuständige Proferment.

Mit einem anderen Plasma konnten wir bei kleineren Mengen als 0,01 ml S. f. pro Ansatz keine Lyseaktivierung nachweisen.

Wirkung von S. f. auf unterschiedliche Mengen Plasma

Ansätze: 15 ml Puffer + unterschiedliche Mengen Plasma + 1,5 ml S. f.

Tab. 6

	ml Pl	Einzelwerte in %	Mittelwerte in %
1.	5	22, 18	20
2.	3	12, 14	13
3.	1,5	14, 10	12
4.	1,0	3, 10	7
5.	0,5	6, 4	5
6.	0,25	6, 6	6
7.	0,1	5, 4	4

Siehe Abbildung 1 auf Seite 23

Für die verschiedenen Plasamengen wurden Vergleichsansätze ohne S. f. Aktivierung angesetzt mit den entsprechenden Plasamengen, und diese der Berechnung der Lysequoten als Vollwert (0% Lyse) zugrunde gelegt. (z. B. Für Ansatz 1 ergab sich der 0%-Lysewert aus der Testfolie, welche in 15 ml Puffer und 5 ml Plasma inkubiert war.) Denn verschiedene Mengen von Plasmaproteinen bedingen verschiedene Färbung.

Mit abnehmender Plasamenge nimmt die Lysequote ab. Das legt den Schluß nahe, daß S. f. die Gesamtmenge oder jeweils einen bestimmten Prozentsatz des vorhandenen Plasmas aktiviert. Auch wird noch bestätigt, daß S. f. Plasma aktiviert und nicht Fibrin aus den Folien löst. Ware dies der Fall, würde man bei gleicher S. f. -Menge jeweils gleiche Lysezunahme erwarten.

Wirkung von S. f. bei verschiedener Inkubationszeit

Ansätze: 15 ml Puffer + 1,5 ml Plasma + 1,5 ml S. f.

Tab. 7

Inkubationszeit in min	Einzelwerte in %	Mittelwerte in %
30	12, 14	13
20	10, 10	10
15	10, 6	8
10	6, 8	7
5	4, 4	4
3	6, 4	5

Siehe Abbildung 2 auf Seite 23

Die Vollwerte (0% Lyse) wurden ohne S. f. angesetzt und ebenso lange inkubiert wie die zugehörigen Testwerte.

Die Lysequote nimmt mit abnehmender Inkubationszeit ab.

Aktivierbarkeit von gealtertem Plasma

Dasselbe Plasma wurde 3 Tage später 30 min. inkubiert. (15 ml Puffer + 1,5 ml Plasma + 1,5 ml S. f.). Es wurde im Kühlschrank bei 4°C aufbewahrt.

Die Lysequoten betragen 2%, 2%, 17% und 18%. (Mittelwert: 13%) Der Mittelwert von 13% entspricht demjenigen der Tab. 5.

Ergebnis

Bei den Ansätzen beeinflussen die geringen Mengenunterschiede, die durch den Zusatz der zu untersuchenden Präparate (fehlende Volumengleichheit) entstehen, das Versuchsergebnis nicht.

In vitro rufen verschiedene Mengen S. f. immer gleiche Lyseaktivierung hervor. Mit abnehmender Plasmamenge und mit Verkürzung der Inkubationszeit nimmt die Lysequote ab.

Das Plasma bis zu 3 Tagen 4°C aufbewahrt ist durch S. f. noch ebenso stark aktivierbar wie nach der Entnahme. Die 3-tägige Alterung beeinflusst die Aktivierbarkeit offenbar nicht.

Zu Tab. 6

Abhängigkeit der Lysequote von der Plasmamenge

Lysequote in %

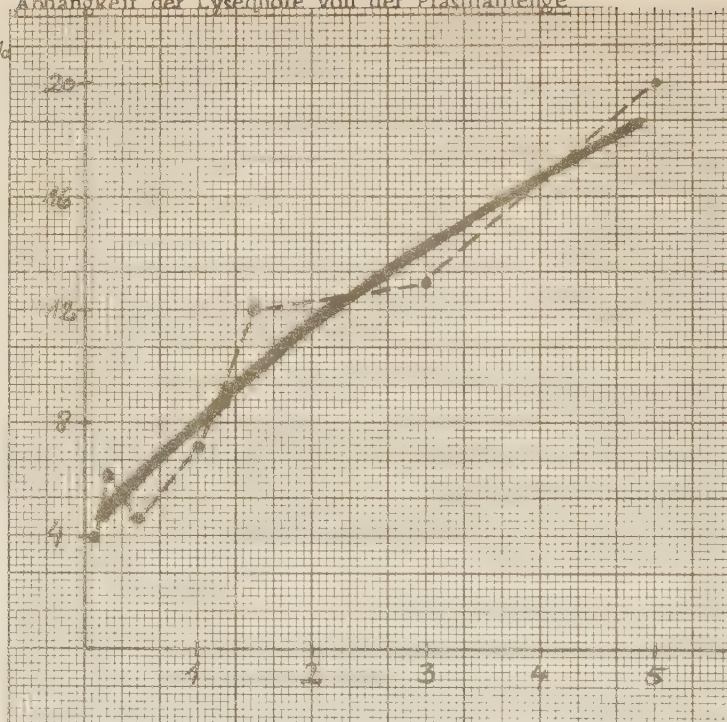


Abb. 1

Plasmamenge
in ml

Zu Tab. 7

Abhängigkeit der Lysequote von der Inkubationszeit

Lysequote in %

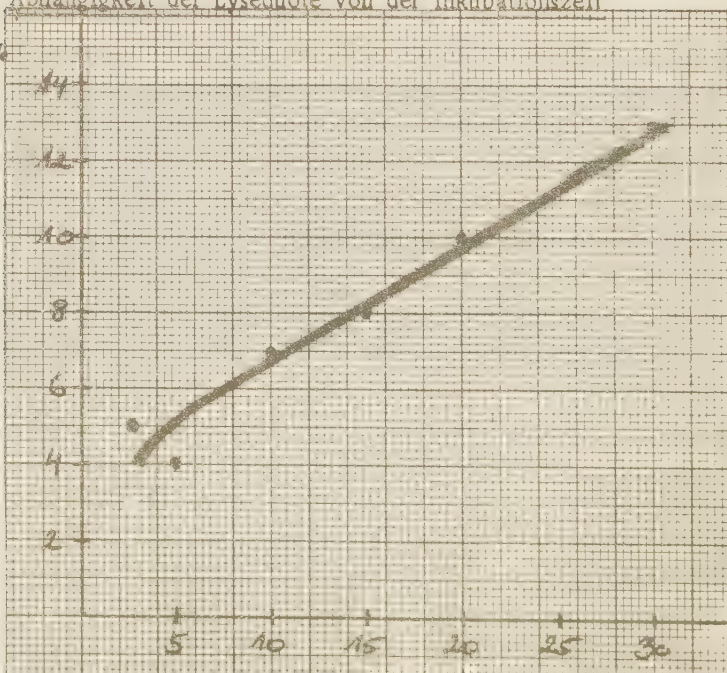


Abb. 2

Inkubationszeit in
min

II. In-vitro-Versuche an Kaninchenplasma

Wirkung von S. f. auf Kaninchenplasma

Die Ergebnisse an Humanplasma kann man nicht ohne weiteres auf Kaninchenplasma übertragen mit seinen andersartigen Gerinnungsverhältnissen und seinem anderen fibrinolytischen System (Astrup (62), Egli (63)). Wir führten deshalb einige Kontrollversuche durch, um zu klären, ob S. f. auch Kaninchenplasma in vitro fibrinolytisch aktiviert. Die Ansätze (15 ml Puffer + 1,5 ml Plasma + 1,5 ml S. f.) wurden 30 min. inkubiert. Die Vollansätze ohne S. f. wurden 0% gesetzt.

Zu Tab. 8

Die Plasmen der Kaninchen 851, 853 und 860 ergaben Mischplasma A, die der Kaninchen 852, 855 und 857 Mischplasma B.

Ergebnis

Auch die Fibrinolyse von Kaninchenplasma wird in vitro durch S. f. in 100% der Fälle und voll reproduzierbar aktiviert.

Tab. 8

Nr.	Einzelwerte in %	Mittelwerte in %
851	14, 14	14
853	19, 19	19
860	17, 15	16
852	20, 21	20
855	15, 20	18
857	18, 16	17
A	17, 17	17
B	13, 13	13

III. In-vivo-Versuche an Kaninchen

Versuchsanordnung

Zur Blutentnahme und Injektion benutzten wir die Ohrvenen, welche mit Xylo hyperaemisiert wurden. Wir entnahmen zuerst vor der Injektion Blut als Vergleichswert (0-Wert). Danach injizierten wir das zu untersuchende Präparat. Den Tieren wurde pro kg Körpergewicht 0,3 ml der jeweiligen Testlösung appliziert. Die Injektionsdauer betrug 50 sec pro ml Lösung. Wir entnahmen Blut nach 15 min. (15' -Wert), 30 min. (30' -Wert) usw. Die Kaninchen wurden mehrmals nach Versuchspausen von mindestens 4-8 Wochen verwendet.

Einige Tiere wurden während der Injektion unruhig. Die Sektion der Tiere zeigte an Lunge, Herz, Leber, Milz, Darm und Niere makroskopisch keine pathologischen Veränderungen.

Bestimmung mittels TEG

Tab. 9

Präparat	0-Wert Lyse	15' -Wert Lyse	4 h-Wert Lyse
S.f. (4 Tiere)	Ø	Ø	Ø
Heparin + N.S. (3 Tiere)	Ø	Ø	Ø
Heparin (3 Tiere)	Ø	Ø	Ø
N.S. (2 Tiere)	Ø	Ø	Ø

Ergebnis

Bei keinem der untersuchten Tiere trat eine Zunahme der Lyse ein. Möglicherweise wurden die Plasmen zu spät (3-5 Std.) nach der Entnahme verarbeitet.

Bestimmung mittels (aktivierter) Papierfibrinolyse

Die folgenden Tabellen enthalten die Mittelwerte der Doppelbestimmungen. Die Zahl in Klammern nennt die Abweichungen der Einzelwerte vom Mittelwert. Die unter der Rubrik "Ansatz" aufgeführten Zahlen erklären die Ansätze; Diese bestanden aus 15 ml Veronalpuffer und den in dieser Rubrik angegebenen Mengen an Plasma und Streptase.

Der untere Tabellenabschnitt zeigt die Mittelwerte der jeweils zusammengehörigen Lysequoten. Aus wievielen Werten (n) sich dieser errechnete, nennt die Zahl in Klammern. Es wurden z. B. in Tab. 10 19 Vergleichsversuche angesetzt zwischen den 0-Werten und den 15'-Werten. Die durchschnittliche Lysequote ist beim 0-Wert 63%, beim 15'-Wert 62%.

1. Solvosal forte

Tab. 10

Nr.	0-Wert in %	15' -Wert in %	30' -Wert in %	60' -Wert in %	4h-Wert in %	Ansatz in ml
829	71 (2)	69 (1)	—	—	71 (1)	1,0
827	70 (8)	—	—	—	72 (5)	1,0
835	72 (5)	66 (1)	—	—	—	1,0
832	82 (0)	72 (3)	—	—	83 (1)	1,0
831	67 (0)	59 (9)	55 (0)	—	—	0,5
834	51 (2)	49 (2)	54 (1)	—	—	0,5
833	43 (0)	45 (2)	—	32	—	0,5
835	50	50	—	50	—	0,5
829	61 (1)	60 (1)	—	—	—	0,5
844	74 (2)	71 (0)	89 (1)	—	—	0,5
842	70 (2)	77 (1)	78 (9)	—	—	1,0
841	68 (3)	68 (3)	70 (9)	—	—	1,0
849	71 (1)	71 (1)	79 (9)	73 (1)	—	1,0
844	71 (1)	68 (2)	—	66 (9)	—	1,0
841	50 (1)	49 (2)	—	—	—	1,0
842	64 (1)	65 (1)	—	—	—	1,0
844	58 (1)	54 (1)	—	—	—	1,0
848	65 (1)	69 (3)	—	—	—	1,0
849	70 (0)	70 (0)	—	—	—	1,0
850	42 (2)	44 (4)	—	—	—	1,0
n (19)	63	62	—	—	—	
(8)	67	66	67	—	—	
(4)	58	58	—	55	—	
(3)	72	—	—	—	72	

2. Solvosal

Tab. 11

Nr.	0-Wert in ‰	15' -Wert in ‰	30' -Wert in ‰	Ansatz in ml
841	62 (1)	63 (2)	61 (1)	0,75
846	66 (1)	60 (1)	59 (1)	0,75
n (2)	64	62	60	

3. Heparin (Thrombo-Vetren)

Tab. 12

Nr.	0-Wert in ‰	15' -Wert in ‰	Ansatz in ml
829	74 (2)	77 (1)	1,5
832	81 (2)	85 (2)	1,5
834	78 (1)	77 (1)	1,5
n (3)	77	78	

1/Amp. 7

848	71 (4)	71 (4)	1,0
847	69 (1)	68 (1)	1,0
n (2)	70	71	

4. Nikotinsäure (Niconacid)

Tab. 13

Nr.	0-Wert in ‰	15' -Wert in ‰	30' -Wert in ‰	Ansatz in ml
839	67 (2)	65 (4)	—	1,0
841	71 (2)	67 (2)	—	1,0
846	73 (0)	75 (2)	—	1,0
847	64 (2)	60 (1)	60 (1)	1,0
n (4)	70	68		

5. Heparin + N.S.

Tab. 14

Thrombo-Vetren und Niconacid

Nr.	0-Wert in %	15'-Wert in %	4h-Wert in %	Ansatz in ml
830	63 (1)	84 (4)	78	0,5
831	48 (12)	48 (5)	49 (1)	0,5
833	56 (2)	70 (1)	62 (2)	0,5
n (3)	56	67	63	

1/Amp. 8

Nr.	0-Wert in %	15'-Wert in %	30'-Wert in %	60'-Wert in %	Ansatz in ml
825	70	75	62	63	1,0
829	59	51	48	59	1,0
830	—	58	—	57	1,0
833	—	63	—	60	1,0
835	58	64	56	—	1,0
834	58	58	59	45	1,0
n (6)	61	62	56	56	

6. Heparin + Rutin (1/Amp. 9)

Tab. 15

Nr.	0-Wert in %	15'-Wert in %	30'-Wert in %	60'-Wert in %	Ansatz in ml
827	25 (5)	33 (0)	29 (2)	31 (1)	0,5
832	28 (0)	28 (1)	27 (1)	—	0,5
836	20 (0)	20 (3)	20 (2)	20 (1)	0,5
837	19	24	—	—	0,5
838	2 (1)	32 (2)	27 (1)	26 (0)	0,5
n (5)	25	27	—	—	
14	26	28	26	—	
1	25	28	25	25	

7. N.S. + Rutin (1/Amp. 11)

Tab. 16

Nr.	0-Wert in %	15'-Wert in %	30'-Wert in %	60'-Wert in %	Ansatz in ml
844	50 (0)	76 (0)	74 (0)	66 (2)	0,75
845	75 (1)	59 (2)	73 (1)	73 (1)	0,75
849	69 (2)	73	66	—	0,75
850	63 (2)	61 (0)	54 (5)	—	0,75
n (4)	66	68	68	—	
(2)	58	63	73	69	

Zu den Tab. 10 - 16

In den Tabellen 10, 11, 12 und 13 ist keine Lyseänderung festzustellen.

In Tab. 14 tritt bei Nr. 830 und 833 15 min. und geringer auch 4 Std. nach der Injektion von Heparin + N.S. eine Lysezunahme auf.

In Tab. 15 nimmt die Lyse bei Nr. 827 von 25% auf 33% zu.

In Tab. 16 steigt sich die Lyse bei einem Tier (844), und verringert sich bei 2 Tieren (845 und 850).

Bei allen anderen Tieren erfolgte keine Lyseänderung.

Die seltenen Lyseänderungen in Tab. 14 - 16 lassen im Verhältnis zur großen Zahl der konstanten Versuchsergebnisse keine signifikante Aussage zu. Sie dürften methodischen Fehlern entspringen.

Ergebnis

Nach der Injektion von Heparin und N.S. sowie deren Kombinationen auch mit Rutin kann beim Kaninchen mittels der (aktivierten) Papierfibrinolyse keine signifikante Lyseänderung festgestellt werden.

Bestimmung mittels SPF

.. bei einer Inkubationszeit von 15 min.
(Injektionsflüssigkeit: S.f.)

Tab. 17

Nr.	0-Wert in %	15' -Wert in %	30' -Wert in %	60' -Wert in %
831	0	0	0	-
834	0	8	9	-
833	0	3	-	3
835	0	0	-	0
827	0	0	0	-

2 von 5 Ansätzen deuten eine geringe Lysezunahme an. Wir verlängerten die Inkubationszeit von 15 min. auf 22 Std., um möglicherweise eine bessere Differenzierung der Versuchsergebnisse zu erreichen.

b. bei einer Inkubationszeit von 22 Std.

Ansätze: Veronalpuffer zu steigenden Mengen Plasma bis zur Volumengleichheit von 7 ml.

1. 0,25 ml Plasma

Tab. 18

Nr.	0-Wert in %	15' -Wert in %	30' -Wert in %
848	0	3	2
843	0	7	8
839	0	0	0

2. 0,5 ml Plasma

Tab. 19

Nr.	0-Wert in %	15' -Wert in %	30' -Wert in %
848	0	18	5
843	0	14	13
839	0	4	2

3. 1,0 ml Plasma

Tab. 20

Nr.	0'-Wert in %	15'-Wert in %	30'-Wert in %	60'-Wert in %	90'-Wert in %
841	0	4	4	0	0
849	0	0	0	0	0
844	0	6	—	0	—

Nr. 839 erhielt N.S., alle anderen Tiere S.f.

Bei den Tieren 848 und 843 in Tab. 19 nimmt die Lyse post inj. zu. Dieselben Tiere lassen auch in Tab. 18 mit nur 0,25 ml Plasma im Ansatz eine schwache Lysezunahme erkennen.

Die Folien der Versuche in Tab. 20 waren so stark gefärbt, daß die Leistungsgrenze des Elphorauswertegerätes überschritten war. Die Ursache dafür ist wohl, daß sich die Folien durch die höhere Eiweißkonzentration im Ansatz stärker mit Plasmaproteinen beladen haben als die Folien der Tab. 18 und 19. Es ist daher möglich, daß die angedeutete Lysezunahme nach 15 min. und 30 min. in vivo höher ist, von der Methode aber nicht gemessen werden kann. 0,5 ml Plasma im Ansatz schien uns daher die optimale Plasmakonzentration zu sein.

Diese Versuchsergebnisse konnten nicht mehr reproduziert werden. In 2 weiteren Versuchsreihen mit neun Tieren waren in den Ansätzen kleine Gerinnsei vorhanden, die eine exakte Auswertung unmöglich machten. Es muß angenommen werden, daß auf den Folien noch geringe Mengen von Thrombin vorhanden sind, welche in Kaninchenplasma eine Gerinnung auszulösen vermögen. Daß bei den ersten Versuchen keine Gerinnseibildung auftrat, mag daran liegen, daß dort die letzten Folien einer Herstellungsserie verwendet wurden und diese durch die Abnahme der Thrombinkonzentration im Laufe der Herstellung (Scholle, 58) nicht mehr in ausreichender Menge Thrombin enthielten.

Mit Rücksicht auf die Ergebnisse der Spontanfibrinolyse, welche in 50% der Fälle eine Lysezunahme mißt (siehe Seite 36), glauben wir berechtigt zu sein, trotz dieser unbefriedigenden Ergebnisse von einer "Andeutung der Lysezunahme bei Kaninchen" sprechen zu können.

Ergebnis

Die Versuchsergebnisse der SPF mit einer Inkubationszeit von 15 min. und 22 Std. deuten eine Lysezunahme nach intravenöser Gabe von S.f. an. Eine signifikante Aussage kann jedoch beim Kaninchen auch mittels dieser Methode nicht gemacht werden.

Bestimmung mittels Spontanfibrinolyse

1. Verwendete Präparate: 1/11 (N.S. + Rutin), N.S. (Niconacid) und Solvosal.

Tab. 21

Präparat	0-Wert	15' -Wert	30' -Wert	60' -Wert
1/11				
4 Tiere	Ø	Ø	Ø	Ø
N.S.				
6 Tiere	Ø	Ø	Ø	—
Solvosal				
2 Tiere	Ø	Ø	Ø +	—

2. Verwendetes Präparat: S.f.

Tab. 22

Nr.	0-Wert	15' -Wert	30' -Wert
841	Ø	+	+
842	Ø	+	+
848	Ø	Ø	Ø
843	Ø	Ø	Ø
848	Ø	Ø	Ø
842	Ø	Ø	Ø
844	Ø	+	—
849	Ø	+	—
841	Ø	+	—
850	Ø	+	—
851	Ø	Ø	Ø
853	Ø	Ø	Ø

Ø = Gerinnsel vorhanden, + = Bodensatz, ++ = vollständige Lyse

Zu den Tab. 21 und 22

Nach Gaben von Solvosal trat nur bei einem von 2 Tieren eine Lysezunahme nach 30 min. ein. In den übrigen Versuchen erfolgte keine signifikante Lyseänderung.

Bei S.f.-Injektion zeigten nach 15 min. 6 von 12 Versuchstieren eine deutliche Lysezunahme. Bei einer Lysezunahme nach 15 min. trat stets auch eine solche nach 30 min. ein. Bei keinem Versuchstier fand eine Lyseabnahme statt.

Ergebnis

Mit der Spontanfibrinolyse konnten wir bei einem Teil der Kaninchen (50%) nach intravenöser Gabe von S.f. eine Lysezunahme beobachten.

IV. In-vivo-Versuche an gesunden Menschen

Versuchsanordnung

Diese Versuche wurden an gesunden Studenten durchgeführt. Sie wurden in der Tabelle mit Buchstaben bezeichnet, männliche mit großen, weibliche mit kleinen. Sie waren zwischen 20 und 26 Jahre alt und hatten größtenteils ein Gewicht zwischen 60 und 75 kg.

Es wurden 12 ml S.f. injiziert (2400 I.E. Heparin, 120 mg N.S. und 60 mg Rutin). In entsprechender Dosierung und Verdünnung verabreichten wir auch Heparin und N.S. allein. Die Injektionsdauer betrug stets 2 min. Das Blut wurde im Verhältnis 1:5 mit Zitrat entnommen.

Bestimmung mittels TEG

Wir bestimmten die TEGs von 3 Personen (Z, H, B) nach S.f.-Gabe. Die 0-Werte lieferten normale Kurven mit einem maximalen Ausschlag von 0.5 - 0.9 cm. Die TEGs der 15'-Werte wurden 4 Std. verfolgt. Das Plasma H zeigte nach 45 min. eine Gerinnung mit $\alpha = 12$ mm, welche jedoch nicht von einer Lyse gefolgt war. Das Plasma Z wies ein lysebedingtes TEG auf, bei dem $\alpha = 3$ mm betrug. Die Gerinnung setzte nach etwa 30 min. ein, die Lyse war nach etwa einer Std. vollständig. Das Plasma B ergab einen Strich.

Ergebnis

Eine Aussage lassen diese Versuche nicht zu.

Bestimmung mittels (aktivierter) Papierfibrinolyse

Ansätze: 15 ml Puffer + 1,5 ml Plasma + 1,5 ml Streptase

Tab. 23

1. Solvosal forte

Nr.	VP	0-Wert in %	15'-Wert in %	30'-Wert in %	60'-Wert in %	120'-Wert in %
1	Z	96	95	95	—	—
2	H	95	95	96	—	—
3	B	74	76	67	—	—
4	K	68	—	70	66	66
5	F	77	—	92	90	92
6	w	70	—	54	72	71
7	D	43	—	49	48	67
8	E	66	—	35	65	68
9	G	58	—	54	71	69
10	H	64	—	58	—	59
n (3)		77	88	—	—	—
(19)		71	—	67	—	—
(7)		64	—	59	68	70

2. Nikotinsäure

Nr.	VP	0-Wert in %	30'-Wert in %	60'-Wert in %	120'-Wert in %
1	A	46	49	53	60
2	C	44	57	48	48
3	s	55	53	—	—
4	0	45	55	51	54
5	R	63	72	56	55
6	V	21	55	49	45
7	M	56	64	64	62
8	L	63	—	—	—
9	n	48	45	52	59
n (9)		47	51	48	54

3. Heparin

Nr.	VP	0-Wert in %	15' -Wert in %	30' -Wert in %	60' -Wert in %	120' -Wert in %
1	Z	73	72	72	—	—
2	H	74	77	73	—	—
3	B	57	55	—	—	—
4	K	63	—	82	44	68
5	F	74	—	56	74	76
6	w	60	—	35	45	66
7	p	73	—	56	73	63
8	t	65	—	67	70	68
9	U	60	—	43	43	49
n (8)		66	(68)	60	—	—
(6)		66		56	58	65

Nr. 1, 2 und 3 in Tab. 23, 1 wurden mit 50 E Streptase pro ml aktiviert, alle anderen mit 10 E. Zu Tab. 23,3 vergleiche auch die Anmerkung unter Tab. 24.

Die Lyse von Z, H und B in Tab. 23,1 ist konstant. Da die 0-Werte von Z und H bereits 96 und 95% betragen, könnte eine Zunahme der Lyse des 15' -Wertes und des 30' -Wertes nicht mehr gemessen werden. Wir haben deshalb bei späteren Versuchen die Ansätze mit 10 E Streptase pro ml aktiviert.

Dabei erhöht sich die Fehlerbreite (Scholle, 58). Bisweilen weichen die Werte in einer Versuchsreihe beträchtlich nach oben oder unten ab. Da nach Aktivierung von 50 E Streptase pro ml von uns Werte in kleinen Fehlerbereichen erzielt wurden, dürfte diese große Fehlerbreite in der Aktivierung mit nur 10 E Streptase zu suchen sein.

Ergebnis

Die Ergebnisse der (aktivierten) Papierfibrinolyse lassen keine Aussage über eine Lysebeeinflussung zu. Die Methode scheint sich offenbar nicht zu eignen, da andere Methoden ansprechen.

Bestimmung mittels SPF

Tab. 24

1. Solvosal forte

Nr.	VP	0-Wert in %	15' -Wert in %	30' -Wert in %	60' -Wert in %	120' -Wert in %
1	Z	0	97	99	—	—
2	H	0	78	59	—	—
3	B	0	75	45	—	—
4	K	0	—	91	62	3
5	F	0	—	14	14	18
6	w	0	—	15	13	18
7	D	8	—	47	21	0
8	E	0	—	29	11	5
9	G	0	—	72	54	3
10	H	0	—	57	55	48

2. Nikotinsäure

Nr.	VP	0-Wert in %	30' -Wert in %	60' -Wert in %	120' -Wert in %
1	A	5	97	10	2
2	C	0	99	47	11
3	s	0	0	—	—
4	0	0	5	1	1
5	R	0	73	20	10
6	V	0	2	1	5
7	M	0	1	8	12
8	L	0	—	—	38
9	n	0	84	22	3

3. Heparin

Nr.	VP	0-Wert in %	15' -Wert in %	30' -Wert in %	60' -Wert in %	120' -Wert in %
1	Z	0	12	23	42	—
2	H	0	1	13	20	—
3	B	0	19	—	49	—
4	K	0	—	0	1	9
5	F	1	—	5	4	0
6	w	0	—	2	0	8
7	p	3	—	3	3	12
8	t	0	—	6	3	0
9	U	0	—	0	12	3
10	M	0	—	1	5	2
11	G	0	—	4	4	3
12	X	0	—	5	7	2
13	F	0	—	1	1	10
14	C	0	—	61	6	4
15	n	0	—	16	26	2
16	Y	0	—	3	2	6

Z, H und B erhielten die Charge I/7 frisch, K, F, w, p, t und U I/7 5 Monate alt, die übrigen Liquemin.

Tab. 25

Mittelwerte der Lysequoten von Tab. 24 in %:

Präparat	n _{VP}	0-Wert	15' -Wert	30' -Wert	60' -Wert	120' -Wert
S. f.	10	0	(80)	52	32	13
N. S.	9	0	—	45	12	10
Heparin	16	0	(10)	10	11	5

Zu Tab. 24 und 25:

S. f. (Tab. 24) bewirkt nach 30 min. in 70% der Fälle eine Lysezunahme um über 45%, N. S. in 50%. Wenn wir bei L, der nach 120 min. noch eine Lysezunahme von 38% aufweist, eine Lysezunahme auch nach 30 min. und 60 min. annehmen, so hatten wir nach N. S. -Injektion eine starke Lysezunahme in etwa 60% der Fälle.

Wenn wir die übrigen Lysequoten der 30'-Werte vergleichen, also die Werte, bei denen die Lyse um weniger als 45% zunimmt, so ist auffällig, daß hier nach N.S. -Gabe keine Lysezunahme auftritt. S.f. erzeugt jedoch auch hier eine geringe Lysezunahme. Daß dies nicht durch Fehler bewirkt wird, glauben wir daraus schließen zu können, daß beide Effekte konstant auftreten und nach 60 min. bestätigt werden.

Nach 60 min. fällt die Lysequote stets wieder ab. Sie verringert sich nach S.f. -Injektion um etwa 20%, nach N.S. -Injektion aber um etwa 35%. (Tab 23,

In Tab. 24,3 zeigen Z, H, und B (I/7 frisch) nach 30 min. und stärker nach 60 min. eine geringe Lysezunahme. 5 Monate später versuchten wir jene Ergebnisse mit derselben Charge an K, F, w, p, t und U zu reproduzieren. Es gelang nicht. Nach Herreiner (64) enthielt die Charge laut Thrombinzeit und Rekalzifizierungszeit nur mehr wenig Heparin.

Den restlichen Versuchspersonen wurde Liquemin in entsprechender Menge verabreicht. Auch bei ihnen reagiert mit Ausnahme von C und n das lytische System nicht.

Nebenwirkungen

Nach S.f. - und N.S. -Injektion trat stets das Flush-Syndrom auf mit Blutandrang und "Sonnenbrandgefühl" zunächst an Stirn, Nacken und Kopf, das sich dann nach unten über den ganzen Körper ausbreitete. Dies wurde teils mehr oder weniger unangenehm empfunden. Z, H, K, G, M, L und n klagten stärker als die anderen. A und C wiesen eine starke Gefäßreaktion auf mit übermäßiger Hautrötung, starkem Tränenfluß und Hautjucken, ohne dies als besonders unangenehm zu empfinden. C bekam während der Abnahme des 30'-Wertes Schwindelgefühl und Übelkeit. G klagte nach der Injektion über Schweißausbruch, Übelkeit und vorübergehende Sehstörungen.

Der starke Flush von L hielt 30 min. unvermindert an, nahm dann langsam ab und war erst nach etwa 1 1/2 Std. verschwunden. Gleichzeitig trat nach 20 min. starker Schüttelfrost auf, der fast 2 Std. anhielt. Während dieses Schüttelfroste waren die Hände vom Handgelenk an weiß und kalt, während der übrige Körper heiß und rot war. Auch H zeigte kalte Hände bei sonst heißem Körper. Bei den anderen Versuchspersonen wurde auf dieses Phänomen nicht geachtet. B - 4x wurde von dem Versuchspersonen Magen schmerzen und Stuhl drang angegeben.

Aus obigen Beobachtungen glauben wir schließen zu können, daß mit geringen Ausnahmen starker Flush große Lysezunahme und schwacher Flush geringe Lysezunahme bewirkt.

Ergebnis

Aus unseren Versuchen glauben wir schließen zu dürfen, daß die Lyse durch S.f. und N.S. etwa gleich häufig in 60% - 70% aktiviert wird. Der Abfall der Lysequote vom 30' -Wert zum 60' -Wert ist nach N.S. -Gabe stärker als nach S.f. -Injektion.

Durch Heparin in der Dosis von 2400 I.E. pro VP wird die Lyse nicht gehemmt und mit wenigen Ausnahmen auch nicht gefördert.

Bestimmung mittels Spontanfibrinolyse

Tab. 26

1. Solvosal forte

Nr.	VP	0-Wert	15' -Wert	30' -Wert	60' -Wert	120' -Wert
1	Z	∅	++	++	—	—
2	H	∅	++	++	—	—
3	B	∅	++	++	—	—
4	K	∅	—	++	++	∅
5	F	∅	—	∅	∅	∅
6	w	∅	—	∅	∅	∅
7	D	∅	—	+	∅	∅
8	E	∅	—	++	+	∅
9	G	∅	—	++	++	∅
10	H	∅	—	++	++	++

2. Nikotinsäure

Nr.	VP	0-Wert	30' -Wert	60' -Wert	120' -Wert
1	A	∅	++	∅	∅
2	C	∅	++	+	∅
3	s	∅	∅	—	—
4	0	∅	∅	∅	∅
5	R	∅	++	∅	∅
6	V	∅	++	∅	∅
7	M	∅	∅	∅	∅
8	L	∅	—	—	++
9	n	∅	++	∅	∅

3. Heparin

Nr.	VP	0-Wert	15' -Wert	30' -Wert	60' -Wert	120' -Wert
1	Z	∅	∅	∅	++	—
2	H	∅	∅	∅	++	—
3	B	∅	∅	∅	+	—
4	K	∅	—	∅	∅	∅
5	F	∅	—	∅	∅	∅
6	w	∅	—	∅	∅	∅
7	p	∅	—	∅	∅	∅
8	t	∅	—	∅	∅	∅
9	U	∅	—	∅	∅	∅
10	M	∅	—	∅	∅	∅
11	G	∅	—	∅	∅	∅
12	X	∅	—	∅	∅	∅
13	F	∅	—	∅	∅	∅
14	C	∅	—	++	∅	∅
15	n	∅	—	∅	++	∅
16	Y	∅	—	∅	∅	∅

∅ = Gerinnsel vorhanden, + = Bodensatz, ++ = vollständige Lyse.

Zur Tab. 26

Bei der Spontanfibrinolyse entsprechen nicht gelöste Ansätze Lysequoten von etwa unter 30% bei der SPF (Tab. 24) und gelöste Ansätze Lysequoten über 30%. Lediglich der 30' -Wert von V zeigt in Tab. 24,2 bei der Spontanfibrinolyse eine Lysezunahme an, in der SPF jedoch nicht.

Ergebnis

Die Ergebnisse der Spontanfibrinolyse bestätigen diejenigen der SPF quantitativ.

DISKUSSION

1. Methoden

a. SPF

Bei der SPF wurden die Folien des 0-Wertes der Berechnung der Lysequoten als Fibrinvollwert (0% Lyse) zugrunde gelegt. Aber auch das Plasma vor der Injektion, also der 0-Wert, eines Menschen hat geringes Lysepotential. Dieses ist sicherlich von Mensch zu Mensch verschieden. Deshalb wäre auch z.B. die gleiche Lysezunahme in unseren Versuchen (Relative Lysezunahme) zweier Plasmen bezogen auf die verschiedene Lysequote ihrer 0-Werte (absolute Lysezunahme) verschieden. Dieser Fehler ist jedoch verglichen mit der starken Differenzierung unserer Methode sehr gering.

Zur Bestimmung der absoluten Lyse müßte man für jeden Fibrinstreifen einen Fibrinvollwert (0% Lyse) bestimmen und diesen ebensolange inkubieren wie den Testansatz, da eine verschiedenlange Inkubationszeit eine unterschiedliche Beladung mit Plasmaproteinen und so eine verschiedene Färbung der Folien bedingt.

Für diese Bestimmung müßte man die Lyse völlig hemmen etwa durch die Zugabe von Epsilon-Aminokapronsäure.

Diese absolute Messung des 0-Wertes und somit auch der übrigen Werte wäre sehr einfach, wenn alle Folien durch maschinelle Herstellung gleichmäßig mit Fibrin beladen wären. Dann wäre der Fibrinvollwert (0% Lyse) konstant.

Die Extinktionswerte der Folien wichen teilweise von einer Geraden stark ab. Diese Messungenauigkeit ist vielleicht eine Folge davon, daß die Ansätze unbewegt inkubiert wurden, und daß die Folien der Reagensglaswand anlagen. Je höher die Lysequote war, desto mehr entsprachen die Extinktionswerte einer Geraden. In Lyseprozent macht dies jedoch nur einen Fehler von etwa 1% aus.

Die gute Übereinstimmung unserer Versuchsergebnisse der SPF mit denen der Spontanfibrinolyse sowie mit den Angaben über N.S. in der Literatur be-rechtigen, die SPF als beweisende Methode für unsere Versuche heranzuziehen.

b. Papierfibrinolyse

Die Literatur und unsere Versuche mit der SPF und Spontanfibrinolyse am Menschen sagen aus, daß die N.S. die Lyse in einem Teil der Fälle aktiviert. Die Papierfibrinolyse hat in unseren Versuchsergebnissen keine Lysezunahme gemessen. Es muß daher geschlossen werden, daß die Papierfibrinolyse eine Lyseaktivierung nicht zu messen vermag. Die durch diese Methode angezeigte Lysequote ist wohl ein Maß für das Aktivierungspotential eines Plasmas mit Streptase, nicht aber für seine lytische Aktivität.

2. Untersuchte Präparate

In vivo konnten wir bei den Kaninchen nach S.f. -Gabe lediglich mit der Spontanfibrinolyse eine teilweise Lysezunahme nachweisen. Die Papierfibrinolyse mißt eine Lyseaktivierung nicht. Die SPF ist bei Kaninchen nicht durchzuführen, da Gerinnsel auftreten.

Wahrscheinlich wird auch beim Kaninchen die Lyse durch N.S. aktiviert. Einige Versuche haben das angedeutet. Wir könnten dies aber mit unserer Methoden nicht signifikant nachweisen.

Vielleicht wäre dies möglich mittels SPF mit einer Inkubationszeit zwischen 15 min. und 22 Std., wenn die Folien solange im Ansatz belassen werden, daß zwar eine meßbare Lyse Differenz zwischen den Plasmen vor und nach der Injektion eintritt, daß aber noch keine Gerinnselbildung stattfindet.

Die Untersuchungen mit Heparin beim Menschen brachten keine einheitlichen Ergebnisse. In der überwiegenden Mehrzahl bewirkte Heparin in vivo keine Lyseaktivierung. In den wenigen Ausnahmen wurde die Lyse nur gering aktiviert. Diese Versuche lassen keine signifikante Aussage zu.

Z U S A M M E N F A S S U N G

A. Methoden

1. Die Papierfibrinolyse modifizierten wir zu einer In-vitro-Bestimmungsmethode. Hierdurch wird die Zunahme der fibrinolytischen Aktivität eines Zitratplasmas nach Zugabe einer Testlösung meßbar.
2. Die Papierfibrinolyse mit 10 bzw. 50 E SK-Aktivierung mißt in erster Linie den Anti-SK-Titer und maskiert infolge dieser relativ starken In-vitro-Fremdaktivierung die zu untersuchenden, in vivo eventuell hinzukommenden lyseveränderten Effekte. Sie erwies sich für unsere Fragestellung ungeeignet.
3. Durch Modifikation der Papierfibrinolyse gelang es uns, die Spontanpapierfibrinolyse (SPF) ohne Fremdaktivierung zu entwickeln, womit beim Menschen die Fibrinolyse in vivo quantitativ ist.

B. Untersuchte Präparate

I. In vitro (Methode: modifizierte Papierfibrinolyse wie A, 1)

1. Die Lyse von Humanplasma und Kaninchenplasma wird in 100% der Fälle und voll reproduzierbar durch Heparin erhöht. Nikotinsäure und Rutin beeinflussen in den von uns verwendeten Konzentrationen weder die Lyse noch die Wirkung von Heparin bei Verwendung leukozytenarmen Plasmas.
2. Verschiedene Mengen Solvosal forte ^(R) bewirken stets gleiche Lysezunahme. Mit abnehmender Plasmamenge oder Inkubationszeit verringert sich die Lyseaktivierung.

II. In vivo

1. Beim Kaninchen gelang es uns nicht, mittels Thrombelastographie, Papierfibrinolyse und Apontanpapierfibrinolyse eine Änderung der Lyse durch Nikotinsäure, Heparin, Rutin oder deren Mischungen nachzuweisen.

Bei der Spontanfibrinolyse, also nur qualitativem Nachweis, kam es nach 15 min. in etwa 50% der Fälle zu geringer Lysezunahme.

2. Im menschlichen Körper ist die Lyseaktivierung durch Solvosal forte im wesentlichen auf die Wirkung der Nikotinsäure zurückzuführen und tritt in etwa 2/3 der Fälle auf.

Einen signifikanten hemmenden und fördernden Einfluß von Heparin auf die Lyse konnten wir in einer Dosierung von 2400 I.E. iv. inj. pro VP nicht nachweisen.

Herrn Professor Dr. W. Seitz danke ich für die freundliche Überlassung des Themas.

Herrn Professor Dr. N. Goossens danke ich vielfach für die stets freundliche Hilfe und die wertvolle Unterstützung sowie für die Großzügigkeit, mit der ich eigene Ideen bearbeiten konnte.

Bei der Firma Helfenberg A.G., Wevelinghofen/Rhld. möchte ich mich für die zur Verfügung gestellten Präparate bedanken.

L I T E R A T U R V E R Z E I C H N I S

1. WEINER, M., REDISCH, W. Proc.Soc.exp.Biol. (N.Y.)
und STEELE, J.M.: 98, 755 (1958)
2. IMHOF, P., IMHOF, M. Schweiz.Med.Wschr. 89, 736 (1959)
EICHENBERGER, E. und
LAUENER, H. :
3. SAILER, S. : Wien. Zschr. f. inn. Med. 41, 307 (1960)
4. BELLER, F.K. und
SELLIN, D. : Arzneimittel-Forschung 10, 758 (1960)
5. EGLI, H. u. KLENSCH, H. Med. Welt 41, 2108 (1961)
6. DAUSSET, J., Vox. sang. 1, 95 (1956)
BERGEROT-BLONDEL, Y.
und COLIN, M.
7. JÜRGENS, J. : Dtsch. med. Wschr. 84, 2285 (1959)
8. KOLLER, F. : Schweiz. Med. Wschr. 90, 1233 (1960)
9. DEUTSCH, E. und Vhdlg. Dtsch. Ges. inn. Med., München
FISCHER, M. (1961) S. 1012
10. BELLER, F.K. und Med. Welt, 36, 1863 und 37, 1928 (1960)
NAGEL, W. :
11. THIESSEN, J., FISCHER, Th. Die Medizinische 1427 (1959)
12. DEUTSCH, E. und III. Internat. Kongreß f. Chemotherapie
FISCHER, M. : Stuttgart 1963, Thieme-Verlag (1964)
S. 1811
13. HEIMBURGER, N. : Neue Erkenntnisse über den Mechanismus
der Fibrinolyse unter besonderer Berücksichtigung der Fibrin-Agar-Elektrophorese,
Behring-Symposium über Streptase,
Marburg/Lahn 1962
14. GROSS, R. : Behringwerke-Mitteilungen, Heft 44, Uni-
versitäts- und Verlags-Buchhandlung,
Marburg-Lahn (1964) S. 1

15. RABINOVITCH und
FINES : Surg. 14, 668 (1943)
16. LOEWE, HERSCH, GRAYZEL, Surg. 22, 747 (1947)
KASHDAN :
17. SAECKELAND : Compt. rend. Soc. biol., Paris, 144 (1950)
18. FRIEDRICH, N. : Ärztl. Wschr. 11/12, 178 (1950) und
15, 352 (1951)
19. MATIS, P., SAUER, K.
und ROCKSTROH, Ch. : Neue med. Welt 1520 (1950)
20. VINATZER, H. : Wiener Zschr. f. inn. Med. 32, 167 (1951)
21. SCHMIDHAUSER-KOPP, M. Experientia 9, 354 (1952)
und EICHENBERGER, E. :
22. v. KAULLA, K.N. : Medizinische 51, 1651 (1953)
23. MARK, R. : Blut 1, 275 (1955)
24. v. KAULLA, K.N. und
SCHMIDHAUSER-KOPP, M. : J. Lab. clin. Med. 48, 952 (1956)
25. SCHMIDHAUSER-KOPP, M. und
v. KAULLA, K.N. : Pat. pol. 8, 107 (1957)
26. SCHMIDHAUSER-KOPP, M. : Sang. 29, 614 (1958)
27. SCHMIDHAUSER-KOPP, M. : Arzneim.-Forschung 12, 574 (1962)
28. JOHNSON, F.B.,
GROSS, C.E. und
CANNABIELLA, D.A. : Ann. Surg. 139, 52 (1954)
29. SANDRITTER, W.,
BERGERHOF und KROCKER : Frankf. Zschr. Path. 65, 342 (1954)
30. SANDRITTER, W.,
HUPPERT, M. und
KROCKER, H. : Klin. Wschr. 36, 651 (1958)
31. LACKNER, H. und
BRANNEY, C. : Brit. J. Haemat. 6, 402 (1960)
32. SALLER, S. und EBER, O. : Klin. Wschr. 38, 548 (1960)
33. BRILL, H.B. u. : Thromb. Diath. haem. Suppl. 1, 6, 259
(1961)

34. DE NICOLA, P. : V. Hamburger Symp. über Blutger. 1962, Schattauer-Verlag Stuttgart S. 245
35. KRAFT, E. : Med. Mschr. 8, 63 (1963)
36. ASTRUP, L.,
CROOKSTON, J. und
McINTYRE, A. : Acta phys. scand. 21, 238 (1950)
37. JAKES, L.B. : In Blood Clotting und Allied Problems. Transaction of the 4th Conference: Josiah Macy Jr. Foundation, New York (1951) S. 45
38. KLINE, D.L. : Yale J. Biol. Med. 26, 365 (1953-54)
39. STROM, O. : Thromb. Diath. haem. Suppl. 1, 6, 289 (1961)
40. BERKARDA, B. : New Istanbul Contr. Clin. Science 5, 186 (1962)
41. HUME, R. : Brit. Heart J. 20, 15 (1958)
42. HÖRDER, M.-H.,
B. KICKHÖFEN und
WENDT, F. : Klin. Wschr. 36, 164 (1958)
43. KOWALSKI, E. und
NIEWIAROWSKI : Thrombosis and Anticoagulant Therapy (1960) Symp. Dundee, University of St. Andrews S. 21-24
44. HALSE, T.H. : Arch. internat. Pharmacodyn. II, 168 (1951)
45. v. KAULLA, K.N.,
McDONALD, T.S. und
TAYLOR, C. : J. labor, clin. Med. 48, 952 (1956)
46. v. KAULLA, K.N. und
McDONALD, T.S. : Blood 13, 811 (1958)
47. KONTTINEN, Y. : Scand. J. clin. Lab. Invest 14, 15 (1962)
48. MARX, R. : V. Hamb. Symposion. Schattauer-Verlag Stuttgart (1962) S. 27
49. CLIFFTON, E.E. : Angiology 10, 244 (1959)

50. NILSSON, J.M.,
BIELAWIEC, M. und
BJÖRKMAN, S.E. : Scand. J. Haemat. 1, 75-88, (1964)
51. DEUTSCH, E. : Wiener Zschr. Inn. Med. 33, 167 (1952)
52. BELLER, F.K. : Antikoagulantien und Fibrinolytika.
1. Ungar. Konferenz über Therapie und
pharmakol. Forschung, Budapest, April 1960
53. THIES, H.A., GIEBEL, M.
und KASTNER, I. : V. Hamb. Symposion, Schattauer-Verlag
Stuttgart, 1962 S. 93
54. WALCHER, A. und
GOOSSENS, N. : VIII. Kongress der Europäischen Gesell.
f. Hämatologie, Wien 1961, S. Karger-
Verlag, Basel
55. GOOSSENS, N. : V. Hamb. Symposion, Schattauer-Verlag
Stuttgart 1962 S. 203
56. GOOSSENS, N. und
WALCHER, A. : Proceedings of the IX. Congress of the
Internat. Soc. of Hematol., Vol. II,
Mexico 1962 S. 271
57. MÜLLER, R. : Fibrinolyse und arterielle Obliteration.
Med. Diss., München 1962
58. SCHOLLE, E. : Zur Methodik der Fibrinolyse-Bestimmung,
speziell der Papierfibrinolyse. Med. Diss.,
München 1964
59. HARTERT, H. : Klin. Wschr 26, 577 (1948)
60. HARTERT, H. : Z. exper. Med. 117, 189 (1951)
61. MACFARLANE, R.G. und
BIGGS, R. : Blood, III, 1167 (1948)
62. ASTRUP, T. : Die Medizinische 42, 1972 (1959)
63. EGLI, H. : V. Hamb. Symposion, Schattauer-Verlag
Stuttgart, 1962, S. 7
64. HERREINER, W. : Med. Diss. München in Vorbereitung

LEBENS LAUF

Als erster von 4 Söhnen des prakt. Arztes Dr. med. Hermann Zantl und seiner Frau Anna geb. Stadler wurde ich am 12. November 1938 in Nandlstadt Kreis Freising geboren.

Nach dem Besuch der Volksschule in Geiselhöring/Ndby. besuchte ich das Humanistische Gymnasium zuerst in Landshut und Schäftlarn und ab der 4. Klasse in München-Pasing. Dort legte ich 1959 die Reifeprüfung ab.

Anschließend leistete ich den 1-jährigen Grundwehrdienst bei der Bundeswehr.

Im Herbst 1960 begann ich das Medizinstudium an der Ludwig-Maximilians-Universität in München, wo ich nach 2 Semestern das Vorphysikum und nach 5 Semestern das Physikum bestand.

Danach war ich ein Semester an der Universität in Wien immatrikuliert und studierte schließlich wieder in München bis zum Staatsexamen, welches ich am 30. 6. 66 bestanden habe.

